Beiträge

zur

Morphologie des pflanzlichen Zellkerns.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät der Landes-Universität Rostock

vorgelegt von

Albert Russow

aus Rostock.

ROSTOCK.

Buchdruckerei von Ernst Russow.

1899.

Beiträge

zur

Morphologie des pflanzlichen Zellkerns.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät der Landes-Universität Rostock

vorgelegt von

Albert Russow

aus Rostock.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

ROSTOCK.

Buchdruckerei von Ernst Russow.

1899.

Referent: Professor Dr. **P. Falkenberg.**

Seinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

vom Verfasser.

An den ruhenden Kernen lassen sich bei genügend starker Vergrösserung verschiedene Differenzirungen feststellen und es unterliegt daher auch keinem Zweifel, dass der Zellkern eine feinere Struktur besitzt.

Im Allgemeinen fallen unter den Differenzirungen der Kerne die Nucleolen, welche gewöhnlich nur in geringer Zahl vorkommen, in die Augen. Dieselben markiren sich durch besondere Grösse und starke Lichtbrechung, lassen sich daher also leicht von den übrigen Kernbestandtheilen unterscheiden. Wenngleich nun eine ganz zuverlässige Unterscheidung der Nucleolen von den übrigen Kerneinschlüssen noch nicht möglich ist, so kann man doch der Ansicht hinneigen, dass die Nucleolen mit besonderen Funktionen versehene Bestandtheile des Kernes darstellen. In der Regel enthalten die Zellkerne nur eine geringe Anzahl Nucleolen und zwar 1—3; indess kann ihre Zahl auch eine bedeutende Grösse erreichen, wie z. B. in den Kernen des Embryosackbelages von Lilium Martagon, wo sie zu 20—30 vorkommen.

Die Gestalt der Nucleolen kann ebenfalls eine sehr verschiedene sein. In der Regel mehr oder weniger kugelig oder elipsoidisch, finden sich auch ganz unregelmässig gestaltete Nucleolen nicht selten. Schottländer [1]) konnte ferner bandförmige und gewundene Nucleolen in den älteren vegetativen Zellen der Prothallien von Gymnogramme feststellen. Für die übrigen normalen Einschlüsse des Zellkernes hat man eine einheitliche Bezeichnung gewählt und es ist für dieselben in der Litteratur die Benennung Kerngerüst angewandt worden.

Im Kerngerüst sind von verschiedenen Autoren zwei verschiedene Bestandtheile konstatiert worden, nämlich ein stark tinctionsfähiger, der in Form von Körnchen dem anderen, weniger tinctionsfähigen, aufgelagert ist. Dieser letztere, welcher ein Fadenwerk oder Balkengerüst bilden soll, wird nach Schwarz [2]) mit dem Namen „Linin" bezeichnet, die Substanz der stark tinctionsfähigen Kugeln aber als „Chromatin".

Nach den Untersuchungen von Zacharias [3]) findet sich im Zellkern allgemein Eiweiss, Nuclein und Plastin vor. Die Vertheilung dieser genannten chemischen

---

[1]) Schottländer, Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen bei Kryptogamen. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 6, 1892.)

[2]) Schwarz, die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoglasmas. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 5, Heft I.)

[3]) Zacharias, a. Ueber den Nucleolus. (Botan. Zeitg. 1885, p. 257.)
b. Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen. (Jb. 1887, No. 18.)

Körper ist in der Weise geregelt, dass Eiweiss neben Plastin hauptsächlich in den Nucleolen vorkommt, während Nuclein den Bestandtheil der Chromosomen, Chromatinkugeln etc. ausmacht.

In Betreff der feineren Struktur des Kerngerüstes bestehen zwischen den verschiedenen Objekten gewisse Unterschiede. Hieraus erklären sich die verschiedenen Ansichten, welche in dieser Beziehung zur Zeit herrschen. Die abweichenden Angaben der einzelnen Autoren dürften zum grossen Theil aber auch darauf zurückzuführen sein, dass sich die feineren Strukturverhältnisse des Zellkerns am lebenden Material sehr schwer studieren lassen, und man daher genöthigt ist, fixiertes und tingiertes Material zu verwenden, bei dem nicht selten Kunstprodukte für die wirklichen Strukturen angesehen

---

Fortsetzung von Note [3]) pg. 6.

c) Ueber Chromatophilie. (Berichte der Deutsch. botan. Gesellsch. 1893, p. 188.)

d) Ueber die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. (Botan. Zeitg. 1881, p. 169.)

e) Ueber den Zellkern. (Jb. 1882, p. 611.)

f) Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. (Jb. 1883, p. 209.)

g) Ueber Kern- und Zelltheilung. (Jb. No. 3.)

h) Kritisches Referat über F. Schwarz:
Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 5, Heft 1. (Jb. 1887, p. 576.)

i) Erwiderung. (Jb. 1888, p. 69.)

k) Ueber das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. (Flora, 1895. Ergänzungsband.)

l) Ueber Beziehungen des Zellenwachsthums zur Beschaffenheit des Zellkerns. (Berichte der Deutsch. botan. Gesellschaft, 1894, p. 103.)

werden. Die fädig-netzartige Struktur des Zellkerns wird wohl zur Zeit von allen Autoren angenommen und ist in eingehender Weise von Flemming [1]) begründet worden.

Von denjenigen Autoren, welche, anknüpfend an die morphologische Differenzierung des Zellkerns, den Nachweis zu erbringen suchten, dass bei den einzelnen Pflanzen auch die einzelnen Inhaltskörper des Kernes aus den gleichen chemischen Bestandtheilen zusammengesetzt seien, ist hauptsächlich Schwarz [2]) anzuführen. Derselbe war im Stande, mit einer Reihe von Lösungsmitteln in den Kernen fünf verschiedene Bestandtheile festzustellen, erhielt aber bei seinen wenigen Untersuchungen schon so verschiedene Resultate, dass der Nachweis der Substanzen in allen Kernen nicht so zuverlässig zu sein scheint.

Viel sicherer als mit Anwendung dieser Lösungsmittel ist man im Stande, die verschiedenen Kernbestandtheile durch geeignete Tinctionsmittel zu unterscheiden. Hierbei kommen besonders Gemische von einem rothen und einem blauen oder grünen Farbstoff zur Verwendung und zwar werden von den rothen Farbstoffen vorwiegend Säure-Fuchsin oder auch Fuchsin, von den blauen resp. grünen Methylenblau, Methylgrün oder Jodgrün benutzt. Je nachdem nun eine Substanz im Kerne hauptsächlich oder ausschliesslich den rothen Farbstoff aufnimmt, bezeichnet man sie als erythrophil, nimmt sie dagegen den

---

[1]) Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig, 1882.

[2]) vgl. Note 2, pag. 6.

blauen resp. grünen Farbstoff auf, pflegt man sie als cyanophil zu bezeichnen.

Bei Anwendung aller dieser Methoden zeigen die Nucleolen ein erythrophiles, das Chromatin dagegen ein cyanophiles Verhalten. Die zwischen den Chromatinfäden liegende Substanz färbt sich schwach roth. Ein Kern erscheint nun um so mehr cyanophil, je dicker die Chromatinfäden sind und je dichter sie nebeneinander liegen, je weniger erythrophile Substanz sie also trennt.

Als weitere Einschlüsse des Zellkerns, welche jedoch nicht als normale Bestandtheile desselben auftreten, können die Proteinkrystalloide genannt werden.

Proteinkrystalloide wurden zuerst von Radlkofer [1]) in den Zellkernen von Lathraea squamaria gefunden. Auf Grund der Untersuchungen von G. Kraus [2]), der 1872 Krystalloide in der Blattepidermis von Polypodium ireoides fand, entdeckte Zimmermann solche auch in den Kernen der genannten Pflanze. Von ihm sind alsdann die Untersuchungen auf eine ganze Anzahl von Pflanzen ausgedehnt und in sehr vielen Proteinkrystalloide nachgewiesen worden. Bei einigen Familien sind sie fast ausnahmslos in den Kernen gewisser Gewebe angetroffen worden. Hand in Hand gehend mit dem Auffinden derselben sind dann die geeigneten Fixierungs- und Tinctionsmethoden vervollständigt und verbessert worden. So ist es denn gelungen, die Proteinkrystalloide auch

[1]) Radlkofer, Ueber Krystalle proteinartiger Körper. Leipzig, 1859.

[2]) Kraus. (Pringheim's Jahrbücher f. wissenschaftl. Botan. Bd. VIII, p. 426.)

mit Sicherheit von den übrigen Kerneinschlüssen zu unterscheiden, namentlich von den Nucleolen, mit denen sie vielfach, was die Gestalt anbetrifft, übereinstimmen. Nur von „den rundlichen Körpern oder eiweisserfüllten Vakuolen", denen sie nach Zimmermann „höchst wahrscheinlich" ihren Ursprung verdanken, lassen sie sich zur Zeit noch nicht unterscheiden, was nach Zimmermann aber auch nicht von Wichtigkeit ist. „So ist ja namentlich für die Auffindung der physiologischen Funktion der Krystalloide ganz belanglos, den Moment genau feststellen zu können, in dem die Verwandlung der Vakuolen in Krystalloide stattfindet."

In vorliegender Arbeit, welche ich eigentlich zum Zwecke von Untersuchungen über ein Bestehen von etwaigen Veränderungen in der Beschaffenheit des Kernes wachsender Zellen unternahm, traten betreffend die Proteinkrystalloide so interessante Erscheinungen auf, dass ich es mir zur Hauptaufgabe stellte, einen Beitrag zur Entstehung der Proteinkrystalloide innerhalb der Zellkerne zu liefern. Als Untersuchungsobjekt wurden die sich durch grosse Kerne auszeichnenden Spross-Vegetationspunkte von Larix europaea, die in Streckung begriffenen Blätter von Syringa vulgaris, Lophospermum scandens, Woodwardia radicans und die mit jungen Sporangien versehenen Blätter von Ceratopteris thalictroides gewählt und möchte ich, bevor ich die erhaltenen Differenzierungen bespreche, die angewandten Präparationsmethoden mittheilen.

Die Spross-Vegetationspunkte von Larix europaea, sowohl Kurztriebe wie auch Langtriebe, wurden im Frühjahr von Mitte März bis Mitte Mai, das übrige Blätter-Material im Herbst gesammelt. Zum Fixieren wurde eine Anzahl der bestempfohlenen Methoden angewandt und zwar:

1. eine 5 % alcoholische schweflige Säure, Einwirkungsdauer 24 Std.;

2. eine 5 % wässerige schweflige Säure, Einwirkungsdauer 48 Std.;

3. eine concentrirte alcoholische Sublimatlösung, Einwirkungsdauer 24 Std.;

4. eine 2 % wässerige heisse Sublimatlösung, Einwirkungsdauer 48 Std.;

5. eine 2 % wässerige kalte Sublimatlösung, Einwirkungsdauer 48 Std.;

6. eine 5 % alcoholische Formalinlösung, Einwirkungsdauer 48 Std.;

7. eine wässerige Lösung von 1 % Chromsäure, 1 % Sublimat, 1 % Eisessig, Einwirkungsdauer 24 Std.;

8. eine wässerige Lösung von 1 % Chromsäure, 1 % Ameisensäure, Einwirkungsdauer 24 Std.

Ich möchte gleich vorausschicken, dass von den mit diesen angeführten und ausprobierten Fixirungsflüssigkeiten behandelten Objekten ausschliesslich die mit concentrirter alcoholischer Sublimatlösung und die mit

5 % alcoholischen schwefligen Säure fixierten Objekte zur Untersuchung gelangten, da sie im Verein mit den noch zu besprechenden Tinctionsmethoden die besten und instruktivsten Bilder gaben.

Nach der jedesmal vorgeschriebenen Einwirkungsdauer der betreffenden Fixierungsflüssigkeit wurden die Objekte 6—8 Stunden im fliessenden Wasser sorgfältig ausgewaschen und in Alcohol übertragen. Das Einbetten der Objekte in Paraffin erfolgte nach dem von Zimmermann empfohlenen Verfahren, nur mit dem Unterschiede, dass ich zwischen absoluten Alcohol und Xyol noch Anilin einschaltete. Die eingebetteten Objekte wurden mit dem Mikrotom in meist 5 Mü dicke Schnitte zerlegt und diese dann in Serien auf Objektträgern mittelst Wasser in der Wärme gestreckt und durch Verdunstenlassen desselben aufgeklebt. Bei Objekten, die mit den angegebenen Chromsäurefixierungsflüssigkeiten behandelt waren, war diese Methode des Aufklebens indes nicht angebracht. Die aus solchen Objekten hergestellten Schnitte lösten sich beim Auflösen des Paraffins in Terpentinöl merkwürdigerweise von den Objektträgern ab, so dass ich gezwungen war, die sonst so elegante Aufklebemethode mittelst Wasser zu unterlassen und die Eiweissmethode anzuwenden.

Aus der Zahl der angewandten Tinctionsmethoden will ich nur diejenigen hervorheben, welche sich bei den Untersuchungen besonders bewährten. Sehr scharfe und instruktive Bilder lieferte z. B. die Methode von

M. Heidenhain[1]) an Objekten, die mit der 5 % alkoholischen schwefligen Säure fixiert waren. Ueberhaupt giebt diese Fixierung, die zuerst von Herrn Privatdozent Dr. R. Hegler im hiesigen botanischen Institut angewandt wurde, auch mit anderen Tinctionen ausgezeichnete Bilder. Die nach Heidenhain gefärbten Objekten werden so lange differenziert, bis das Plasma ganz entfärbt ist und das Chromatin blass bläulich erscheint, was man am besten direkt unter dem Mikroskop kontrolliert.

Von den angewandten Doppelfärbungen erschien mir die Safranin-Gentianaviolett-Orange G-Methode als die gleichmässigste und zuverlässigste. Die ebenfalls mit schwefliger Säure fixierten Objekte wurden für 12 Stunden in eine Safraninlösung gestellt, welche aus gleichen Theilen einer concentrirten alcoholischen Safraninlösung, Wasser und Anilinwasser bereitet war. Darauf wurden sie mit Wasser abgespült und nacheinander in 0,5 % Säure-Alcohol und Alcohol differenziert, was am besten wieder unter dem Mikroskop kontrolliert wird. Bei guter Differenzierung bleiben nur die Nucleolen rot gefärbt. Jetzt brachte ich die Schnitte für 3—5 Minuten in eine wässerige Gentianaviolettlösung von der Concentration 1 : 10. Nach sorgfältigem Abspülen mit Wasser lies ich sie dann $^1/_4$—1 Minute in verdünnter Orange G-Lösung und differenzierte nach sorgfältigem

---

[1]) M. Heidenhain, Ueber Korn und Protoglasma. (Kölliker, Festschrift des anatomischen Institut der Universität Würzburg. Leipzig 1892.)

Abspülen des überschüssigen Farbstoffes mit absolutem Alcohol in Nelkenöl.

Die Untersuchung über Proteinkrystalloide stellte ich nach den von Zimmermann [1]) empfohlenen Methoden, der Altmann'schen Methode und der Säurefuchsin-Methode B, am mit concentrirten alcoholischen Sublimatlösung fixierten Material an. Von diesen beiden gab jedoch die letztgenannte Methode viel bessere Bilder, weshalb ich mich ausschliesslich derselben bediente. Namentlich bei der Doppelfärbung mit Haematoxylin leistete die Methode B vorzügliche Dienste. Bei dieser Methode ist aber sehr darauf zu achten, dass eine völlig ausgereifte Delafield'sche Haematoxylinlösung zur Anwendung gelangt, da nur mit einer solchen die Nucleolen schön blau bis blauschwarz hervortreten. Die tingierten und differenzierten Schnitte wurden im Alcohol (60 % und absolutem) entwässert, dann in Xyol und schliesslich in Canadabalsam übertragen.

---

[1]) Zimmermann, Ueber das tinctionelle Verhalten der Zellkernkrystalloide. (Zeitschr. für wissensch. Mikroskopie. 1893. Bd. 10.)

I. Structur des Zellkerns.

Der Meristemkegel der Spross-Vegetationspunkte von Larix europaea ist bei den Kurztrieben je nach Alter und Entwickelungszustand 0,2—0,5 mm lang, bei den Langtrieben dagegen 1—3 mm. Auf Längsschnitten sieht man, dass die Grenze zwischen dem meristematischen und dem in Streckung begriffenen Gewebe deutlich vorhanden ist, die sich dadurch äussert, dass die Streckung, sobald sie einmal begonnen hat, auch eine bedeutende Vergrösserung der Zellen bewirkt. Eine scharfe Grenze zwischen dem Dermatogen und Periblem ist, wie bei sehr vielen Coniferen, nicht vorhanden, dagegen setzt sich der Pleromcylinder sehr scharf von dem übrigen Gewebe ab.

Es gelingt ohne Schwierigkeit, mit Hilfe des Mikrotoms Längsschnitte durch den Meristemkegel zu erhalten, welche ausser dem Meristem noch einen Teil des in Streckung begriffenen Gewebes zur Anschauung gelangen lassen. Derartige Objekte, nach der oben beschriebenen Safranin-Gentianaviolett-Orange G-Methode behandelt, zeigen, dass die Grenze des Meristems nicht nur durch die Grösse der Zellen, sondern auch durch die structurelle Verschiedenheit der Zellkerne bezeichnet wird. Bevor ich auf letztere eingehe, will ich die Grössenverhältnisse der vorliegenden Zellkerne, die ich mittelst Abbé'schen Zeichenapparates bei 1000facher Vergrösserung festgestellt habe, wiedergeben.

Die absolute Grösse der Kerne ist, ebenso wie die der Zellen selbst, im Pflanzenreiche wie im Thierreiche eine sehr verschiedene. Im allgemeinen kann man sagen, dass in grossen Zellen auch grosse Kerne enthalten sind, doch sind auch zahlreiche Fälle bekannt, wo in grossen Zellen verhältnismässig kleine Kerne enthalten sind. Ich führe als Beispiel nur die durch bedeutende Grösse ausgezeichneten Sexualkerne an.

Rosen [1]) giebt nun ferner an, dass die Kerne und Kernkörperchen des Wurzelmeristems der Hyacinthe, ausser den unmittelbar am Scheitel gelegenen, im Verhältnis zu den zugehörigen Zellen, also relativ, und auch absolut grösser seien als diejenigen der ausgewachsenen Gewebe, dieselbe Beobachtung, welche früher Schwarz bei seinen Untersuchungen der Vegetationspunkte und der in Streckung begriffenen Theile von Wurzeln und Stengeln verschiedener Pflanzen gemacht hat.

Auf Grund meiner eigenen Messungen an den Kernen des Spross-Vegetationspunktes von Larix europaea habe ich dieselben Erscheinungen wahrgenommen. Ich fand in einer Epidermiszelle am Scheitel den Durchmesser des Kernes zu 8 Mü. Einige Zellen weiter vom Scheitel entfernt betrug der Durchmesser des Kernes 10 Mü und vergrösserte sich bis zu 6 : 11 und 7 : 16 Mü. Die letzten Zahlen zeigen, dass der Kern inzwischen oval geworden ist. An der unteren Grenze des

[1]) Rosen, Neueres über die Chromatophilie der Zellkerne. (Jahresbericht der Schlesischen Gesellsch. f. vaterländ. Cultur. 1894.)

Meristems hat der Kern schon bedeutend abgenommen und misst nur noch 4 : 9 Mü. Die Kerne in den Procambiumsträngen, die sich durch eine bedeutende Längsstreckung auszeichnen, besitzen einen Durchmesser von 3 : 12 bis 4 : 16 Mü.

Es ist eine allgemeine feststehende Thatsache, dass die Kerne in den jugendlichen und plasmareichen Zellen eine mehr oder weniger regelmässig kugelige Gestalt besitzen, während sie sich in älteren Zellen, wo das Plasma nur noch einen Wandbelag in den Zellen bildet, abplatten.

Schwarz [1]) sucht dies dadurch zu erklären, dass die Kerne in den älteren Zellen einen weniger flüssigen Aggregatzustand besitzen und infolgedessen der Abrundung, die durch die äussere Spannung eintreten müsste, einen zu grossen Widerstand entgegensetzen. Rosen [2]) nimmt indes an, dass die Ausbildung der Kernmembran hiermit in Zusammenhang stehe, dass die Kerne in den älteren Zellen eine mehr ausgebildete und feste Kernmembram besitzen und diese der Oberflächenspannung den Widerstand entgegensetzen, den Schwarz für seine Auffassung geltend macht.

Was die morphologische Differenzierung der Zellkerne betrifft, so konnte ich an Objekten, die nach der bekannten Doppelfärbungsmethode hergerichtet waren, folgendes konstatieren.

[1]) vgl. Note 1, pag. 6.

[2]) Rosen, Kerne und Kernkörperchen in meristematischen und sporogenen Geweben. (Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 7.)

Der normale vegetative Kern ist zusammengesetzt aus zwei Substanzen, einer roten, die im Nucleolus enthalten ist, und einer blauen, die als mehr oder weniger feines Netzwerk seine Hauptmasse ausmacht. Dieses Netzwerk setzt sich aus feinen Fädchen zusammen, an deren Knotenpunkten intensiv blaue Körnchen liegen, deren Grösse eine sehr verschiedene ist. Während jedoch dieses Gerüstwerk im Meristem lebhaft blau gefärbt ist, nimmt dasselbe ausserhalb des Meristems einen mehr violetten Ton an, mit anderen Worten, der im Meristem cyanophile Kern nimmt ausserhalb des Meristems einen erythrophilen Charakter an. Diese Eigenschaft des Gerüstwerkes, sich für gewöhnlich blau zu färben, hat man durch das Vorhandensein einer bestimmten Substanz zu erklären gesucht, die den cyanophilen Theilen eigen, den erythrophilen dagegen fehlen müsste. Eine solche Substanz glaubte man denn in dem Nuclein [1]) erblicken zu müssen, von welchem Zacharias [2]) nachgewiesen hat, dass es nur im Kerngerüst allein vorkomme, und dass es den weiblichen Sexualkernen, welche sich ja erythrophil verhalten, beinahe ganz fehle, während die männlichen Sexualkerne sehr viel Nuclein besitzen. Zacharias [3]) lieferte für seine Angabe den Beweis, indem er zeigte, dass nicht nur künstliche Nucleinpräparate aus einem roth-

[1]) Bezüglich der Benennung vergleiche Zacharias, Ueber Chromatophilie. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. XI. pag. 188.)

[2]) vgl. Note 3b, pag. 6.

[3]) vgl. Note 3c, pag. 7.

blauen Farbstoffgemisch allein den blauen Farbstoff aufnehmen, sondern dass auch überall im Pflanzenreiche sich die nucleinhaltigen Zellbestandtheile blau, die übrigen aber roth färben. Durch diese Erkenntnis ist erwiesen, dass im vorliegenden Falle in den Meristemkernen eine Häufung von Nuclein vorhanden ist, nicht nur insofern, dass hier mehr und grössere Kerne in dem gleichen Raume liegen als im Dauergewebe, sondern auch noch deshalb, weil die Meristemkerne auch relativ reicher an cyanophiler Substanz sind als die Kerne der Dauergewebe. Dieser Färbungsunterschied steht aber auch mit gewissen Änderungen im Aufbau der Kerne in Zusammenhang. Der ruhende Meristemkern ist ganz ausgekleidet mit einem äusserst feinen und dichten Maschenwerk. Grössere Körner oder Ansammlungen von solchen, Stränge etc. sind in ihm nicht wahrzunehmen. Die Nucleolen, welche unmittelbar am Scheitel noch klein und in geringer Zahl, 1—3, vorhanden sind, nehmen alsbald an Grösse sowohl als auch an Zahl zu. Ich fand nicht selten in den Kernen 5—6 Nucleolen. Auffallend ist, dass diejenigen Meristemkerne, welche unmittelbar am Scheitel liegen, keine ausgesprochen erythrophilen Nucleolen besitzen, wenigstens ist es mir nicht gelungen, dieselben intensiv roth zu färben. Vielleicht ist diese Erscheinung damit zu erklären, dass der Chemismus der jungen Nucleolarsubstanz ein anderer ist und die rein rothe Färbung der Nucleolen erst mit ihrer Dichtigkeit und grösseren Ausbildung auftritt. Die Nucleolen in den allerjüngsten Kernen

unmittelbar am Scheitel zeigten daher eine blau- bis rothviolette Färbung. Figur 1 stellt einen solchen Kern zur Anschauung dar.

Eine derartige Abweichung in der Chromatophilie der Nucleolen hat auch Schottländer [1]) schon im Prothallium von Gymnogramme beobachtet, allerdings nicht in meristematischen, sondern in Kernen ausgewachsener Zellen. Auch Schottländer gelangt zu der Ansicht, dass der Nucleolus eine Stoffänderung erfährt, indem er pag. 295 sagt: „Die bei normaler Doppelfärbung mitunter vorkommende Blaufärbung der Nucleolen in den Kernen ausgewachsener Zellen des Prothalliums von Gymnogramme, wo besagte Nucleolen stets bandförmig, S-förmig oder noch complicierter geformt waren, dürfte ihren Grund in Veränderungen der Substanz des Nucleolus finden."

Etwas weiter vom Scheitel entfernt sieht der Kern schon ganz anders aus. Wenn ihm auch die Fähigkeit, den blauen Farbstoff zu speichern, noch in demselben Masse eigen ist, so hat sich das Gerüstwerk doch insofern geändert, als ich in demselben die feine Vertheilung des Chromatins vergebens suchte. Die vorhin erwähnten winzigen Körnchen sind verschwunden oder haben sich vielmehr zu grösseren Körnern vereinigt. Die Nucleolen haben an Masse bereits zugenommen und lassen sich nun rein roth färben. (Figur 2.) Dasselbe Verhalten des Chromatins hat Zacharias [2]) bei Cucurbita

[1]) vgl. Note 1, pag. 6.
[2]) vgl. Note 3k, pag. 7.

beobachtet. Zacharias sagt: „Weiter rückwärts von der Wurzelspitze, wo keine in Theilung begriffenen Zellen mehr vorhanden sind, sind die Nucleinkörper grösser als in der Theilungsregion."

Diesen Kernen gegenüber besitzt der Kern ausserhalb des Meristems einen Unterschied in der Chromatophilie, indem der Kern jetzt einen erythrophilen Charakter angenommen hat. Das Maschenwerk des Kernes ist noch unregelmässiger geworden. Ich konnte deutlich längere Fäden, sogenannte Fibrillen, unterscheiden, und es machte den Eindruck, als ob das Gerüstwerk im Kerne ungleichmässig vertheilt wäre. (Figur 3.) Noch weiter vom Scheitel entfernt, bereits im Dauergewebe, hat der Kern an Volumen verloren, desgleichen haben die Nucleolen an ihrer Gesammtmasse bedeutend abgenommen. Das Altern der Kerne charakterisierte sich bei Larix also durch folgende Erscheinungen:

1. Die Kerne nehmen an Nucleingehalt ab;
2. Das Chromatingerüst wird strängig;
3. Der Kern nimmt an Volumen ab;
4. Die Gesammtmasse der Nucleolen nimmt ab.

Was die Struktur der Nucleolen anbetrifft, so habe ich dieselben als vollkommen homogen gefunden, was ja auch der weitaus häufigste Fall im Pflanzenreiche ist. Eine eigentliche Struktur ist an Nucleolen noch niemals beobachtet worden, die einzigen mit Sicherheit nachgewiesenen Einschlüsse derselben sind Vakuolen,

welche gelegentlich von Flemming [1]) beobachtet wurden. Für die Pflanzenwelt hat namentlich Rosen [2]) dieselben hervorgehoben. Die Form der Nucleolen ist bei Larix mehr oder weniger kugelig, scharf begrenzte, krystallähnliche Formen habe ich nicht beobachten können. Mit Ausnahme der Nucleolen in den Kernen unmittelbar am Scheitel habe ich alle mit einem Hofe umgeben gefunden. Derartige Höfe hat auch Rosen [3]) bei seinen Untersuchungen gefunden und man kann, da dieselben an den verschiedensten Objekten und nach den verschiedensten Präparationsmethoden auftreten, es wohl nicht für wahrscheinlich halten, dass dieselben Kunstprodukte resp. Schrumpfungsprodukte sein sollen, wie Flemming [4]) früher annahm.

---

[1]) vgl. Note 1, pag. 8.

[2]) Rosen, Ueber tinctionelle Unterscheidung verschiedener Kernbestandtheile und der Sexualkerne. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 5.)

[3]) vgl. Note 2, pag. 17 und Note 2 pag. 22.

[4]) vgl. Note 1, pag. 8.

II. Entwickelungsgeschichte der Proteinkrystalloide in den Zellkernen.

Die nach der Zimmermann'schen Säure-Fuchsin-Methode B gefärbten Längsschnitte durch den Spross-Vegetationspunkt von Larix europaea liessen, die Markzellen ausgenommen, sehr wenig von Proteinkrystalloiden erkennen. Um die übrigen Kernbestandtheile, Chromatingerüst und Nucleolen, besser und deutlicher hervorzuheben, wurden die Schnitte mit Haematoxylin vorgefärbt und dann erst mit Säure-Fuchsin gegengefärbt. Zu diesem Zwecke beliess ich die Objekte ca. 12 Stunden in einer völlig ausgereiften Lösung von Delafield'schem Haematoxylin und brachte sie hiernach für ca. 1 Stunde in gewöhnliches Leitungswasser, wodurch in den Schnitten erst die dem Haematoxylin eigene Färbung, ein schön tiefblauer Farbniederschlag, entsteht. Dann differenzierte ich in 0,5 % Säure-Alcohol, bis der Kern vom Haematoxylin noch etwas überfärbt war, denn die eigentliche Differenzierung tritt erst durch die nun nachfolgende Färbung mit Säure-Fuchsin ein, das ebenfalls wie eine schwache Säure-Lösung differenzierend wirkt. Nachdem das Säure-Fuchsin genügend gewirkt hatte, was nach ca. 12 Stunden der Fall war, wurden die Schnitte im Wasser weiter differenziert und schliesslich in der bekannten Weise in Canadabalsam übertragen.

In so behandelten Präparaten waren in den Kernen der Blätter sowie in denjenigen der äusseren Schichten des Vegetationspunktes die Proteinkrystalloide nicht gar häufig anzutreffen, dagegen waren die Kerne der Markzellen fast ganz mit Krystalloiden erfüllt, deren Natur ausser durch die Färbung in sehr vielen Fällen noch durch die regelmässige Gestalt hervortrat, wo die betreffenden Körper von lauter ebenen Flächen begrenzt waren. In diesen letzteren Fällen hatte ich es also mit völlig ausgebildeten Krystalloiden zu thun. Ich machte es mir jetzt zur Aufgabe, die jüngeren Stadien, die Entwickelungsstadien, aufzufinden, um mir aus den einzelnen Uebergängen ein Bild von der Entstehung der Krystalloide, speciell bei Larix, zu machen. Die Anregung hierzu gaben mir die verschiedenen Beobachtungen, welche betreffend die Entstehungsweise der Proteinkrystalloide gemacht worden sind. Nach Zimmermann [1]) entstehen die Krystalloide, wie ich schon oben erwähnte, höchst wahrscheinlich aus kleinen Körnchen oder eiweisserfüllten Vakuolen, die im Zellkern auftreten und in ihrer stofflichen Zusammensetzung mit den Krystalloiden übereinstimmen. Diese Körper fliessen dann zu grösseren Kugeln zusammen, „aus denen durch eine Art von Krystallisationsprocess die von mehr oder weniger ebenen Flächen begrenzten Krystalloide hervorgehen, die sich aber später natür-

[1]) Zimmermann, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Tübingen. 1893.

lich noch durch Apposition oder Intussusception vergrössern können.“ Dasselbe berichtet Borzi [1]) von seinen untersuchten Convolvulus spec., bei denen die Krystalloide ebenfalls im Innern von Eiweissvacuolen entstehen. Auch in einer Abhandlung von Peters [2]) finden sich für die Endosperme verschiedener Samen, namentlich von Sparganium, ähnliche Angaben: „Die erste Andeutung eines Eiweisskrystalles ist eine aus Eiweisstoffen bestehende, hyaline, ölartig erscheinende Masse von rundlicher Form. Da grössere und kleinere Eiweisstropfen vorhanden sind, so lässt sich annehmen, dass die ursprünglichen kleinen Proteintropfen sich durch Ansammlungen vergrössern. Der weitere Verlauf der Krystalloidbildung geht in folgender Weise von statten. Im Innern der hyalinen Eiweissmasse zeigte sich eine Differenzierung in einen dichteren Theil, der aber noch nicht die Form der Krystalle deutlich erkennen liess. In manchen Eiweisstropfen konnten sodann ein oder zwei von einander getrennte, schon deutlich die Krystallform zeigende Krystalloide beobachtet werden. Die Krystalloide nehmen dann im Innern des Eiweisstropfens an Grösse zu, und scheint es mir wahrscheinlich, dass dieselben durch Apposition wachsen.“

---

[1]) Borzi, Sui cristalloidi nucleari di „Convolvulus“. (Contrib. alla biol. e fis. veg. di A. Borzi 1894. Vol 1.)

[2]) Peters, Untersuchungen über den Zellkern in den Samen während ihrer Entwickelung, Ruhe und Keimung. Inaugur. Dissertation. Rostock 1891.

Entgegen diesen Beobachtungen fand G. Stock [1]) bei Rivina humilis und Syringa vulgaris, dass die krystallinische Form der Krystalloide schon gleich bei ihrer Entstehung in den jungen Organen vorhanden sei. Stock sagt: „Die Beobachtungen an Rivina humilis sind etwas schwieriger, da in den Zellkernen zwei bis vier Proteinkrystalloide vorhanden sind. Aber auch hier konnte ich mit Sicherheit feststellen, dass anfangs nur zarte, langgestreckte Proteinkrystalle vorhanden waren, während sich in völlig ausgewachsenen Blättern ausschliesslich grössere, kräftigere Proteinkrystalle vorfanden, die sich gleichfalls bis fast zum Absterben des Blattes in gleicher Zahl und Grösse erhielten. Syringa vulgaris zeigt bereits in den kleinen, noch keineswegs ausgewachsenen Blättern Zellkernkrystalle, die mit vorschreitendem Alter nur noch um ein Geringes vergrössert werden. Es kann somit nach den vorstehenden vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Pflanzen als sichergestellt gelten, dass die Proteinkrystalloide in den von mir beobachteten Fällen sich einfach durch Wachsthum vergrössert haben. Die von Zimmermann [2]) bei Polypodium ireoides und vacillans beobachtete Entstehungsweise der Proteinkrystalle, die durch Verschmelzung kugeliger Körper stattfinden soll, hat also jedenfalls keine allgemeine Verbreitung."

[1]) G. Stock, Ein Beitrag zur Kenntnis der Proteinkrystalle. (Cohn's Beiträge z. Biolog. d. Pflanzen. Bd. 6. 1892.)

[2]) vgl. Note 1, pag. 24.

In seiner neueren Arbeit [1]) giebt nun Zimmermann zu, dass die Entstehung der Proteinkrystalloide nach den vorliegenden Untersuchungen eine verschiedene zu sein scheint.

Meine an Larix angestellten Untersuchungen ergaben, dass neben den in den Figuren 1—3 abgebildeten normalen Kernen in dem Assimilationsgewebe der Blätter und den äusseren Schichten des Vegetationspunktes Kerne vorkamen, die eine grössere Anzahl Nucleolen, etwa die doppelte Anzahl, enthielten. Die Gegenfärbung mit Säure-Fuchsin ergab negative Resultate, Proteinkrystalloide waren also nicht vorhanden. Aus dem zahlreichen Auftreten der Nucleolen konnte ich noch nicht vermuthen, es hier mit den Entstehungsstadien der Proteinkrystalloide zu thun zu haben, erst die sehr variirende Grösse der Nucleolen und ihre merkwürdige Lage in den Zellkernen führten zu den weiteren Beobachtungen, die ergaben, dass in diesen Kernen in der That die ersten Anfänge der Proteinkrystalloidbildung vorlagen. In dem normalen ruhenden Kerne nehmen die Nucleolen, wie Figur 4—6 zeigt, sowohl an Grösse als auch an Zahl bedeutend zu. Die ganz klein zu Tage tretenden Nucleolen kann ich wohl mit Sicherheit als die jüngsten, neu gebildeten bezeichnen, welche sich nun zusehends vergrössern. Aber schon während dieser Zeit beobachtete ich, dass die ursprünglichen, grossen

[1]) Zimmermann, Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns. Jena. 1896. (pag. 46.)

Nucleolen an das eine Ende der ellipsoidischen Zellkerne wandern, denen allmählich die übrigen an Grösse zunehmenden folgen und sich anlagern. Diese Vorgänge zeigen ausser den schon genannten Figuren 4—6 noch die folgenden Figuren 7—10. In allen diesen Kernen treten die Nucleolen als solche schön blau gefärbt hervor, während die Einwirkung von Säure-Fuchsin stets ohne Erfolg blieb. Das nächste Stadium zeigte mir Kerne, bei denen gerade der umgekehrte Fall eintrat, wo ich nur mit Säure-Fuchsin eine Färbung erzielte, dagegen mit Haematoxylin vergebens operirte. Was war hier eingetreten? Ich konstatierte Kerne ohne Nucleolen, dagegen eine scharfe und schöne Färbung, welche den Nachweis für Proteinkrystalloide lieferte! Freilich war von einer Krystallform noch nicht die Spur zu entdecken, im Gegentheil zeigten die gefärbten Körper denselben Habitus wie die in den vorigen Figuren zur Anschauung gebrachten Nucleolen, aber eben diese für Proteinkrystalloide charakteristische Färbung musste genügend sein, um das Vorhandensein von Proteinkrystalloidmasse zur Evidenz nachzuweisen. Einen solchen Kern bringt Figur 11 zur Anschauung. Die folgenden Figuren 12 und 13 zeigen, dass diese rothen Körperchen von Proteinkrystalloidmasse, oder, wie ich schon jetzt sagen will, die zu solcher umgebildeten Nucleolen einen flüssigeren Aggregatzustand annehmen müssen. Wir sehen die Körperchen alle oder bis auf wenige, welche etwas später nachfolgen, zusammenfliessen und den ganzen, bisweilen nur fast den ganzen Raum des

Kernes einnehmen. Dureh einen Krystallisationsprocess entstehen dann aus dieser Mutterlauge, wenn ich mich so ausdrücken darf, Krystalloide von regelmässig sechseckigem Umriss, die ebenfalls den ganzen oder fast den ganzen Zellkern ausfüllen, wie Figur 14 und 15 veranschaulichen. Bei der Entwickelung dieser interessanten Vorgänge ist noch bemerkenswerth, dass das Ende des Zellkerns, an welchem sich die Nucleolen ansammeln, im Vegetationskegel stets der Spitze desselben, also dem Sprossscheitel, zugekehrt ist, in den Blättern dagegen der Basis derselben. Ausserdem beobachtete ich eine starke Abnahme des Chromatins an dem der Nucleolenanhäufung entgegengesetzten Ende der Zellkerne und eine intensive Ansammlung desselben unmittelbar um die Nucleolen. Es tritt also eine ungleichmässige Vertheilung des Chromatins im Zellkerne ein.

Diejenigen Krystalloide, welche die ganze Masse des Zellkerns ausfüllen, lassen, wenn man ihre Entwickelung und Entstehung nicht kennt und nicht beobachtet hat, die Annahme leicht aufkommen, dass die Zellkerne selbst überhaupt nicht mehr vorhanden sind, dass dieselben bei der allmählichen Ausbildung der Proteinkrystasiloide zu Grunde gegangen, desorganisiert sind. Diese Annahme kann noch unterstützt werden durch die Abnahme des Chromatins in dem der Nucleolenanhäufung entgegengesetzten Ende der Zellkerne. Doch die Krystalloide, welche nur zum grössten Theil den Kern ausfüllen, lassen hier eine derartige Ansicht hinfällig werden.

Beobachtungen von Ausbildung der Krystalloide, bei denen der Kern zu Grunde geht, liegen in der Litteratur mehrfach vor. So giebt Borzi [1]) für die von ihm untersuchten Convolvulus spec. an, dass mit der Ausbildung der Krystalloide die Kerne ganz verschwinden. Dasselbe konstatierte Baccarini [2]) bei verschiedenen Leguminosen, wo derselbe hauptsächlich in Kelch und Blumenkrone Proteinkrystalloide beobachtete. Diese letzte Beobachtung wird allerdings von Zimmermann angezweifelt resp. hinfällig gemacht. Dieser Autor will nämlich an der von Baccarini am genauesten untersuchten Genista aetnensis gefunden haben, dass die angeblich zu Grunde gehenden Zellkerne nur von „einer mit den Krystalloiden in ihrem tinctionellen Verhalten übereinstimmenden Masse" vollständig eingehüllt werden und dass die Krystalloide gar nicht im Kern, sondern ausserhalb desselben entstehen. Wir sehen aus diesen verschiedenen, sehr von einander abweichenden Beobachtungen, dass zweifelhafte Bilder, aus denen man nicht sofort und mit völliger Bestimmtheit die Thatsache ablesen kann, zu grundverschiedenen Annahmen führen können.

Meine an Larix europaea angestellten Beobachtungen haben somit ergeben, dass die Entstehung der Protein-

[1]) vgl. Note 1, pag. 25.

[2]) Baccarini, Sui cristalloidi fiora — li di alcune Leguminose, (Boll. d. Soc. bot. ital. 1895. p. 139), und Berichtigung. (Botan. Centralblatt. 1896. Bd. 66. pag. 76.)

krystalloide oder zunächst die der mit den Krystalloiden in ihrem tinctionellen Verhalten übereinstimmenden Masse durch direkte Umbildung aus den Nucleolen vor sich geht. Eine derartige Angabe, dass die Nucleolen bei der Bildung der Proteinkrystalloide eine Rolle spielen resp. letztere aus ihnen hervorgehen, findet sich nirgends in der ganzen Litteratur. Nur in der oben, pag. 25, angeführten Dissertation wird von Peters berichtet, dass vor der Bildung der Eiweisskrystalle bei Sparganium und Carex eine bedeutende Vermehrung der Nucleolen eintritt, dieselbe Erscheinung, welche ich in meinen Kernen als den Beginn der Bildung der Proteinkrystalloide geschildert habe.

Auf Grund dieser Beobachtungen stellte ich nun Untersuchungen an anderen Pflanzen an, und zwar an solchen, in denen bereits von Zimmermann das Vorhandensein von Zellkernproteinkrystalloiden konstatiert wurde. Aus der Familie der Farne wählte ich die mir leicht zugänglichen Woodwardia radicans und Ceratopteris thalictroides. Nach den Untersuchungen von Zimmermann besitzen die Proteinkrystalloide in der Familie der Farne sowohl im Zellkerne als auch ausserhalb desselben eine grosse Verbreitung. Besonders zeichnen sich unter ihnen die Polypodiaceae durch einen grossen Reichthum an Krystalloiden aus. Die Untersuchungen Zimmermann's beschränken sich nur auf das Vorhandensein von Krystalloiden und führen eine grosse Anzahl von Pflanzen auf, in denen Krystalloide konstatiert wurden. In Bezug auf ihre Entstehung gelten die von ihm gemachten

und von mir bereits oben angeführten allgemeinen Beobachtungen. In den Blättern von Woodwardia radicans fand Zimmermann in jedem Kerne der Schwammparenchymzellen „sehr zahlreiche und grosse, theils oktaederförmige, theils sechseckige Krystalloide."

Die von mir untersuchten jungen Blätter von Woodwardia, die noch in Streckung begriffen waren, zeigten in ihren Schnitten Kerne von ziemlicher Grösse. Die Durchschnittsgrösse derselben habe ich mit 6 mal 15 Mü bestimmt. Sie zeichnen sich, ebenso wie die von Larix, durch einen grossen Gehalt an Chromatin aus. In den mit Haematoxylin und Säure-Fuchsin gefärbten Schnitten konnte ich in einzelnen Kernen Proteinkrystalloide nachweisen und zwar in ihren verschiedensten Entstehungsstufen. Die meisten Kerne waren jedoch noch frei von Krystalloiden. Der normale Kern besitzt 1—3 Nucleolen von derselben Grösse wie bei Larix. Figur 16 bringt einen solchen Kern zur Anschauung. Daneben fand ich aber Kerne mit zahlreichen kleinen Nucleolen. Dieselben zeichneten sich durch eine viel intensivere Färbung aus als der grössere oder die grösseren Nucleolen, wie Figur 17 zeigt, eine Beobachtung, die ich an den Kernen von Larix nicht gemacht habe. Ein anderes Stadium zeigt einen Kern, in dem die Nucleolen alle dieselbe Grösse erreicht haben und auch dieselbe Färbungsintensität besitzen. (Figur 18.) Die folgende Abbildung, Figur 19, führt uns einen Kern vor mit zahlreichen rothen Körperchen von derselben Grösse wie die der Nucleolen. Von den

letzteren ist jedoch kein einziger mehr vorhanden resp. nachzuweisen. Diese Körper sind genau so wie bei Larix durch die spezifische Färbung des Säure-Fuchsins als Krystalloide resp. Krystalloidmasse gekennzeichnet. Auch Zimmermann hat in seinen Präparaten denselben Kern mit so vielen Krystalloiden erhalten. Auch bei ihm fehlen in seiner Abbildung die Nucleolen, welchen Umstand er aber im Text nicht erwähnt. Die weitere Entwickelung der Proteinkrystalloide geht bei Woodwardia in derselben Weise wie bei Larix vor sich. Auch hier scheinen die runden Körperchen einen mehr flüssigeren Aggregatzustand anzunehmen, indem sie nacheinander zusammenfliessen und beinahe den ganzen Kernraum ausfüllen. (Figur 20.) Durch einen Krystallisationsprocess erhalten wir dann auch hier schön ausgebildete sechseckige Krystalloide, wie Figur 21 und 22 zeigt. Somit ist es mir auch bei Woodwardia gelungen, die Nucleolen eng mit der Bildung der Proteinkrystalloide in Zusammenhang zu bringen. Der Beginn derselben wird auch hier durch ein vermehrtes Auftreten der Nucleolen eingeleitet. Von der ungleichmässigen Vertheilung des Chromatins im Kerne, ebenso von einer Ansammlung der Nucleolen an einem bestimmten Punkte im Kerne, wie es bei Larix der Fall ist, habe ich nichts beobachten können.

In den Blättern mit jungen Sporangien von Ceratopteris thalictroides fand Zimmermann „bis zu acht nahezu kugelförmige, aber meist doch etwas eckige Krystalloide in den meisten Kernen des Mesophylls.“

In meinen in der bekannten Weise hergerichteten Präparaten habe ich ebenfalls sehr viele derartige Bilder erhalten. Fast jeder Kern des Mesophylls war angefüllt mit Krystalloiden. Der normale Zellkern in den Blättern von Ceratopteris thalictroides besitzt eine ansehnliche Grösse und zwar durchschnittlich 8 mal 13 Mü. Das Chromatin ist etwas feinkörniger als bei den beiden vorigen Arten. Nucleolen sind gewöhnlich 2—3 vorhanden. Einen solchen Kern sehen wir in Figur 23. Auch bei Ceratopteris wird der Beginn der Proteinkrystalloidbildung durch das Auftreten einer grösseren Anzahl Nucleolen eingeleitet. Die neugebildeten sind auch hier anfangs kleiner als die älteren ursprünglichen Nucleolen, zeichnen sich aber durch eine intensivere Färbung vor den letzteren nicht aus, wie wir uns in Figur 24 überzeugen können. Die nächst folgenden Entwickelungsstadien der Krystalloide bieten bei Ceratopteris insofern viel interessantere Beobachtungen, als die vorhandenen jetzt alle ziemlich gleich grossen Nucleolen nicht auf einmal die rothe Säure-Fuchsin-Färbung annehmen, also nicht auf einmal die Umbildung in Krystalloide erfahren. Die folgende Abbildung, Figur 25, zeigt, wie ungefähr die Hälfte der kugeligen Inhalskörper des Zellkerns die Nucleolen —, die andere Hälfte die Krystalloidfärbung besitzt. Die nächsten Figuren 26 und 27 zeigen nur die Krystalloide, Nucleolen waren nicht nachweisbar. Figur 27 zeigt uns ferner, dass die rothen Körperchen in Zahl zurückgegangen sind, dagegen an Grösse bedeutend zugenommen haben.

Es muss hier also entschieden eine Verschmelzung stattgefunden haben. Ich konnte bei Ceratopteris an verschiedenen Kernen konstatieren, dass während dieser Vorgänge noch neue Nucleolen auftraten, resp. dass dieselben ihren Charakter als Nucleolen noch bewahrt haben. (Figur 28.) Selbst nachdem aus den grösseren Ansammlungen der rothen Körper bereits regulär ausgebildete Krystalloide von sechseckiger Form entstanden waren, konnte ich alle früheren Stadien der Entwickelung ebenfalls noch in ein und demselben Kerne beobachten, wie uns Figur 29 und 30 veranschaulicht. Die letzten Bildungsstufen der Krystalloide bei Ceratopteris, welche wir in den Figuren 31—33 abgebildet sehen, bestehen darin, dass die bis jetzt kugeligen, doch meist etwas eckigen rothen Körper mehr und mehr znsammenfliessen und schliesslich in den Kernen nur noch zwei kleinere oder ein grosses schön ausgebildetes Krystalloid vorhanden sind. In keinem solchen Falle war es mir möglich, noch Nucleolen nachweisen zu können.

Von den phanerogamen Pflanzen, bei denen Zellkernkrystalloide beobachtet wurden, wählte ich aus der Familie der Scrophulariaceen Lophospermum scandens und aus der Familie der Oleaceae Syringa vulgaris. In den Kernen der Blätter der erstgenannten Pflanze fand Zimmermann ausser dem relativ kleinen Nucleolus ein grosses rundliches Krystalloid, das stets ganz oder nahezu kugelförmig war. Die Kerne in jungen Blättern enthielten ebenfalls rundliche Krystalloide, die auch hier stets in Einzahl und etwa von der Grösse der Nucleolen waren.

In den von mir hergestellten Mikrotomschnitten von Blättern verschiedenen Alters, doch stets von jungen, die noch lange nicht ausgewachsen waren, fand ich Kerne, welche sich vermöge ihres einfachen Baues ganz vorzüglich zu den vorliegenden Beobachtungen eigneten. Die Kerne waren gegen die bisher untersuchten Arten nur klein, erreichten etwa die Grösse von 5—6 Mü, waren dafür aber durch ihre Chromatinarmuth und ihre wenigen Nucleolen — es war meistens nur ein einziger vorhanden — für den Gang der Untersuchung günstiger als die anderen Arten. Einen solchen Kern sehen wir in Figur 34. Meine Untersuchungen an Lophospermum haben ergeben, dass die Bildung der Proteinkrystalloide genau in derselben Weise stattfindet wie bei den bereits besprochenen Arten. Das Auftreten mehrerer Nucleolen, die auch hier zuerst klein sind und sich durch eine grössere Fähigkeit den Farbstoff zu speichern auszeichnen, ist die erste Phase der Proteinkrystalloidbildung. (Fig. 35.) Die folgenden Figuren 36—38 zeigen, dass die Nucleolen allmählich grösser werden und sich zu Krystalloiden umbilden. So fand ich Kerne mit drei Krystalloiden neben dem ursprünglichen Nucleolus, während Zimmermann stets nur, auch in jungen Blättern, ein einziges Krystalloid beobachten konnte. Diese rothen Körperchen vereinigen sich dann nacheinander. (Figur 39 und 40.) Während durch diese Verschmelzung schon ein Krystalloid von ansehnlicher Grösse entstanden ist, treten noch neue Nucleolen auf, Figur 41, die dieselben Stufen der Entwickelung zu Krystalloiden durchmachen. In

Figur 42 sehen wir die letzte Vereinigung der rothen Körperchen und in Figur 43 einen Kern mit einem grossen vollständig ausgebildeten rundlichen Krystalloid. Meine bisherigen Untersuchungen hatten ergeben, dass in Kernen mit völlig ausgebildeten Proteinkrystalloiden die Nucleolen gänzlich verschwunden waren, dass dieselben alle an der Bildung der Krystalloide betheiligt waren. Dies ist bei Lophospermum nicht der Fall. Stets fand ich in den Kernen mit einem grossen Krystalloid auch den Nucleolus. In einigen Fällen, in denen er nicht vorhanden zu sein schien, konnte ich ihn im Nachbarschnitte nachweisen. Demnach sind es bei Lophospermum, und wie ich gleich bemerken will, auch bei der zuletzt zu besprechenden Art, Syringa vulgaris, nur die neu gebildeten Nucleolen, die eine Umwandlung in Proteinkrystalloide erleiden.

Die Untersuchungen an der letzten von mir herangezogenen Pflanze, an Syringa vulgaris, ergaben dieselben Verhältnisse wie ich sie bis jetzt geschildert habe. Die erhaltenen Bilder haben speciell mit denen bei Ceratopteris thalictroides eine grosse Aehnlichkeit, sowohl was den Bau der Kerne als auch die einzelnen Bildungsphasen der Proteinkrystalloide betrifft. Die Kerne des Assimilationsgewebes in jungen sich noch in der Knospenlage befindenden Blättern von Syringa erreichten die durchschnittliche Grösse von 7 mal 10 Mü und enthielten 1—3 Nucleolen. (Figur 44.) Die Bildung der Krystalloide erfolgt genau in der bekannten Weise. Eine Vermehrung der Nucleolen bildet auch bei Syringa

den Anfang. Die kleinen kräftiger als die anderen gefärbten Nucleolen nehmen alsbald nacheinander die Krystalloidfärbung an. (Figur 45—47.) Während immer noch neue Nucleolen entstehen und sich umbilden, verschmelzen die zuerst entstandenen rothen Körperchen miteinander und bilden so grössere Ansammlungen. Häufig entstehen während dieses Stadiums auch schon vollständig ausgebildete Krystalloide, die bei Syringa die Form eines schiefen Viereckes haben, also Rhomboeder sind, wie Figur 48 und 49 zeigt. An diese legen sich dann die kleineren oder auch schon die zu grösseren Körpern verschmolzenen Krystalloide, so dass sich die Rhomboeder durch Apposition vergrössern. (Figur 50 bis 52.) In Kernen mit vollständig ausgebildeten Krystalloiden haben wir endlich zwei kleinere oder ein grosses Rhomboid, neben dem ursprünglichen Nucleolus resp. Nucleolen. Solche Kerne zeigen die letzten Abbildungen, Figur 53 und 54. Stock's Ansicht, der über die Entstehung der Proteinkrystalloide innerhalb der Zellkerne gearbeitet hat, dass die Krystalloide in den von ihm untersuchten Pflanzen — wozu auch Syringa vulgaris gehört — schon von vornherein ausgebildet vorhanden sind und sich nur durch weiteres Wachsthum vergrössern, kann ich mich nicht anschliessen. In den von mir untersuchten Pflanzen wird die Entstehung der Proteinkrystalloide innerhalb der Zellkerne durch eine Vermehrung der Nucleolen eingeleitet. Diese bilden sich bei Larix europaea, Woodwardia radicans und Ceratopteris thalictroides alle zu Krystalloiden um, zunächst

in die kleineren rundlichen rothen Körperchen, während bei Lophospermum scandens und Syringa vulgaris nur die neu gebildeten Nucleolen dabei in Frage kommen. Durch Verschmelzung dieser rothen Körperchen und durch einen Krystallisationsprocess entstehen dann die regulär ausgebildeten Proteinkrystalloide.

Aus meinen Untersuchungen geht hervor, dass die Entstehung der Proteinkrystalloide innerhalb der Zellkerne durch Umbildung aus den Nucleolen nicht einzig im Pflanzenreiche dasteht und es ist wohl anzunehmen, dass weitere Untersuchungen nach dieser Richtung noch mehr derartige Resultate ergeben werden, wenn es nicht ausgemacht ist, dass die Krystalloidbildung immer auf diese Weise erfolgt.

Figurenerklärung.

Alle Figuren sind unter Anwendung von Objektiv $^1/_{12}$ homogen. Immersion Leitz und Ocular 3, also 1000facher Vergrösserung, mit der Camera lucida gezeichnet.

Fig. 1. Kern aus einer Meristemzelle unmittelbar am Scheitel des Spross-Vegetationspunktes von Larix europaea. Fixierung 5 % alcoholische schweflige Säure, Färbung nach der Safranin - Gentianaviolett - Orange G - Methode.

Fig. 2. Meristemkern ebendaher, etwas weiter vom Scheitel entfernt. Fixierung und Färbung wie in Fig. 1.

Fig. 3. Kern ebendaher, ausserhalb des Meristems. Fixierung und Färbung wie in Fig. 1.

Fig. 4—15. Kerne aus dem Assimilationsgewebe der Blätter und den äusseren Schichten des Spross-Vegetationspunktes von Larix europaea, die Bildung und Entwickelung der Proteinkrystalloide zeigend. Fixierung concentrierte alkoholische Sublimatlösung, Färbung nach der Zimmermann'schen Säure-Fuchsin-Methode B.

Fig. 16—22. Kerne aus dem Schwammparenchym der Blätter von Woodwardia radicans. Behandlung wie in Fig. 4.

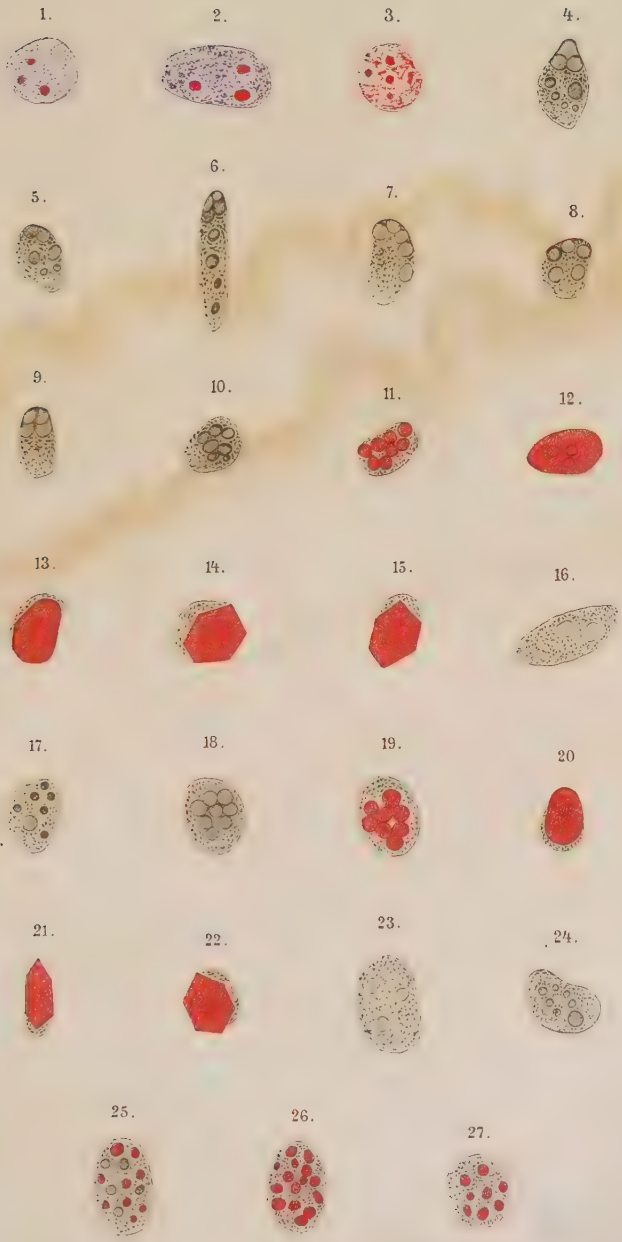
Fig. 22—33. Kerne aus Blättern mit jungen Sporangien von Ceratopteris thalictroides. Behandlung wie in Fig. 4.

Fig. 34—43. Kerne aus jungen Blättern von Lophospermum scandens. Behandlung wie in Fig. 4.

Fig. 44—54. Kerne aus jungen Blättern, welche sich noch in der Knospenlage befinden, von Syringa vulgaris. Behandlung wie in Fig. 4.

Vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Winter-Semester 1896/97 bis Winter-Semester 1897/98 im Botanischen Institut der Universität Rostock ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. Falkenberg, für die Anregung zu dieser Arbeit und für die gütige Unterstützung bei der Ausführung derselben sowie Herrn Privatdozent Dr. R. Hegler meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.


1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.

Lith. Anst. v. C. Kirst, Leipzig.